



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 7/48	A2	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/62480 (43) Date de publication internationale: 9 décembre 1999 (09.12.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01260 (22) Date de dépôt international: 28 mai 1999 (28.05.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/06821 29 mai 1998 (29.05.98) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): PARFUMS CHRISTIAN DIOR [FR/FR]; 33, avenue Hoche, F-75008 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BONTE, Frédéric [FR/FR]; 54, rue Tudelle, F-45100 Orléans (FR). DUMAS, Marc [FR/FR]; 61, Résidence le Windsor, 47ter, avenue de la Mouillère, F-45100 Orléans (FR). PERRIER, Pierre [FR/FR]; 22, rue Jousselin, F-45000 Orléans (FR). (74) Mandataires: PORTAL, Gérard etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, rue de l'Université, F-75340 Paris Cedex 07 (FR).		(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Sans rapport de recherche internationale, sera republiée dès réception de ce rapport.</i>
(54) Title: USE OF AT LEAST A COSMETICALLY ACCEPTABLE SAPONIN OR SAPOGENOL AS COSMETIC AGENT FOR INCREASING THE AMOUNT OF COLLAGEN IV IN THE DERMAL-EPIDERMAL JUNCTION (54) Titre: UTILISATION D'AU MOINS UNE SAPONINE OU UN SAPOGENOL COSMETIQUEMENT ACCEPTABLE, COMME AGENT COSMETIQUE DESTINE A AUGMENTER LA QUANTITE DE COLLAGENE IV DANS LA JONCTION DERMO-EPIDERMIQUE (57) Abstract <p>The invention generally concerns the use of saponins or sapogenols in particular extracted from plants, preferably soya or Medicago, in cosmetology and for making pharmaceutical compositions for skin treatment to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. The invention also concerns novel cosmetic compositions promoting the increase of the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction and a cosmetic treatment method using a saponin or sapogenol. The invention is applicable in cosmetics preferably in anti-wrinkle treatment and in pharmaceuticals for treating diseases related to dermal-epidermal junction deficiency resulting from an insufficient amount of collagen IV.</p> (57) Abrégé <p>La présente invention concerne généralement l'utilisation de saponines ou sapogénols en particulier extraits de plante, de préférence de soja ou de Medicago, en cosmétologie ainsi que pour la fabrication de compositions pharmaceutiques destinées au traitement de la peau en vue d'augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Elle concerne également de nouvelles compositions cosmétiques ou pharmaceutiques favorisant l'augmentation de la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique ainsi qu'un procédé de traitement cosmétique utilisant une saponine ou un sapogénol. L'invention trouve application en cosmétique de préférence dans le traitement anti-rides et en pharmacie dans le traitement des maladies liées à une déficience de la jonction dermo-épidermique résultant d'une quantité insuffisante de collagène IV.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brsil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol cosmétiquement acceptable, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

La présente invention concerne généralement l'utilisation de saponines
5 ou sapogénols en cosmétologie ainsi que pour la fabrication de compositions pharmaceutiques destinées au traitement de la peau en vue d'augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

Elle concerne également de nouvelles compositions cosmétiques ou pharmaceutiques favorisant l'augmentation de la quantité de collagène IV dans la
10 jonction dermo-épidermique ainsi qu'un procédé de traitement cosmétique utilisant une saponine ou un sapogénol.

On sait que la jonction dermo-épidermique est une structure complexe qui assure la cohésion et les échanges entre le derme et l'épiderme, indispensables au bon fonctionnement de la peau.

15 On sait, par ailleurs, que le collagène de type IV, encore dénommé collagène IV est un constituant majeur de la jonction dermo-épidermique qui intervient notamment dans le maintien d'une interface fonctionnelle entre le derme et l'épiderme.

L'état physiologique optimum de la jonction dermo-épidermique
20 dépend d'une quantité suffisante de collagène IV présente dans cette jonction dermo-épidermique.

Il est donc souhaitable, en vue de maintenir ou de restaurer l'état physiologique de la jonction dermo-épidermique, de disposer d'un moyen permettant d'y augmenter la quantité de collagène IV.

25 Il a été découvert, et ceci constitue le fondement de la présente invention, que les saponines ainsi que les sapogénols triterpéniques de préférence de type A ou de type B, en particulier cosmétiquement ou pharmaceutiquement acceptables sont particulièrement appropriés en tant qu'agents permettant d'augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

30 Ainsi, selon un premier aspect, la présente demande vise à couvrir une utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique, cosmétiquement acceptable, en particulier une saponine ou un sapogénol, extrait de plante, de préférence de soja ou d'une plante de type Medicago, ou d'un extrait végétal riche en de tels composés, comme agent cosmétique destiné à augmenter
35 la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

Outre le domaine cosmétique, l'invention trouve également application dans le domaine pharmaceutique, notamment dermatologique.

Ainsi, selon un second aspect, la présente demande vise à couvrir l'utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique, pharmaceutiquement acceptable, en particulier une saponine ou un sapogénol
5 extrait de plante, de préférence de soja ou d'une plante de type *Medicago*, ou d'un extrait végétal riche en de tels composés, pour la fabrication d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la jonction dermo-épidermique résultant d'une quantité
10 insuffisante de collagène IV.

De très nombreuses saponines et de très nombreux sapogénols de nature triterpénique, s'avèrent appropriés dans le cadre de l'utilisation conforme à la présente invention, dans le domaine cosmétique ou pharmaceutique.

Avantageusement, ces composés, qui devront être cosmétiquement ou
15 pharmaceutiquement acceptables, dans le cadre d'une utilisation cosmétique ou pharmaceutique, seront extraits de plantes. Ces composés pourraient être aussi obtenus par synthèse chimique, comme cela est bien compréhensible et connu de l'homme de l'art.

En particulier, on pourra utiliser des saponines extraites de plantes, de
20 préférence extraites de *Glycine max* (soja), de *Phaseolus vulgaris*, de *Phaseolus aureus*, de *Phaseolus lunatus*, de *Vicia faba*, de *Lens culinaris*, de *Cicer arietum*, de *Vigna angularis*, de *Vigna mungo*, de *Oxytropis ochrocephala*, d'*Oxytropis glabra*, de *Pisum sativum*, de *Sophora favescescens*, d'*Asparalus membranaceus*, de *Crotalaria albida*, d'*Arachis hypogea*, de *Galega officinalis*, de *Wistaria
25 brachybotrys*, de *Trifolium repens*, ou extraites de plantes du type *Medicago*, en particulier *Medicago alfalfa* et *Medicago sativa* désigné souvent par le nom de "luzerne".

Selon un troisième aspect, la présente demande vise à couvrir l'utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol, extrait(e) d'une plante riche
30 en de tels composés, choisie parmi : *Glycine max* (soja), *Phaseolus vulgaris*, *Phaseolus aureus*, *Phaseolus lunatus*, *Vicia faba*, *Lens culinaris*, *Cicer arietum*, *Vigna angularis*, *Vigna mungo*, *Oxytropis ochrocephala*, *Oxytropis glabra*, *Pisum sativum*, *Sophora favescescens*, *Asparalus membranaceus*, *Crotalaria albida*, *Arachis hypogea*, *Galega officinalis*, *Wistaria brachybotrys*, *Trifolium repens*, ou une
35 plante du type *Medicago*, en particulier *Medicago alfalfa* et *Medicago sativa* ou

"luzerne" ; comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

Selon un quatrième aspect, la présente invention vise à couvrir l'utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol, extrait(e) d'une plante riche
5 en de tels composés, choisie parmi : Glycine max (soja), Phaseolus vulgaris, Phaseolus aureus, Phaseolus lunatus; Vicia faba, Lens culinaris, Cicer arietum, Vigna angularis, Vigna mungo, Oxytropis ochrocephala, Oxytropis glabra, Pisum sativum, Sophora favescent, Asparalus membranaceus, Crotalaria albida, Arachis hypogea, Galega officinalis, Wistaria brachybotrys, Trifolium repens, ou une
10 plante du type Medicago, en particulier Medicago alfalfa et Medicago sativa ou "luzerne" ; pour la fabrication d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la jonction dermo-épidermique résultant d'une quantité insuffisante de collagène IV.

De préférence, on pourra utiliser des extraits végétaux riches en
15 saponines ou sapogénols triterpéniques.

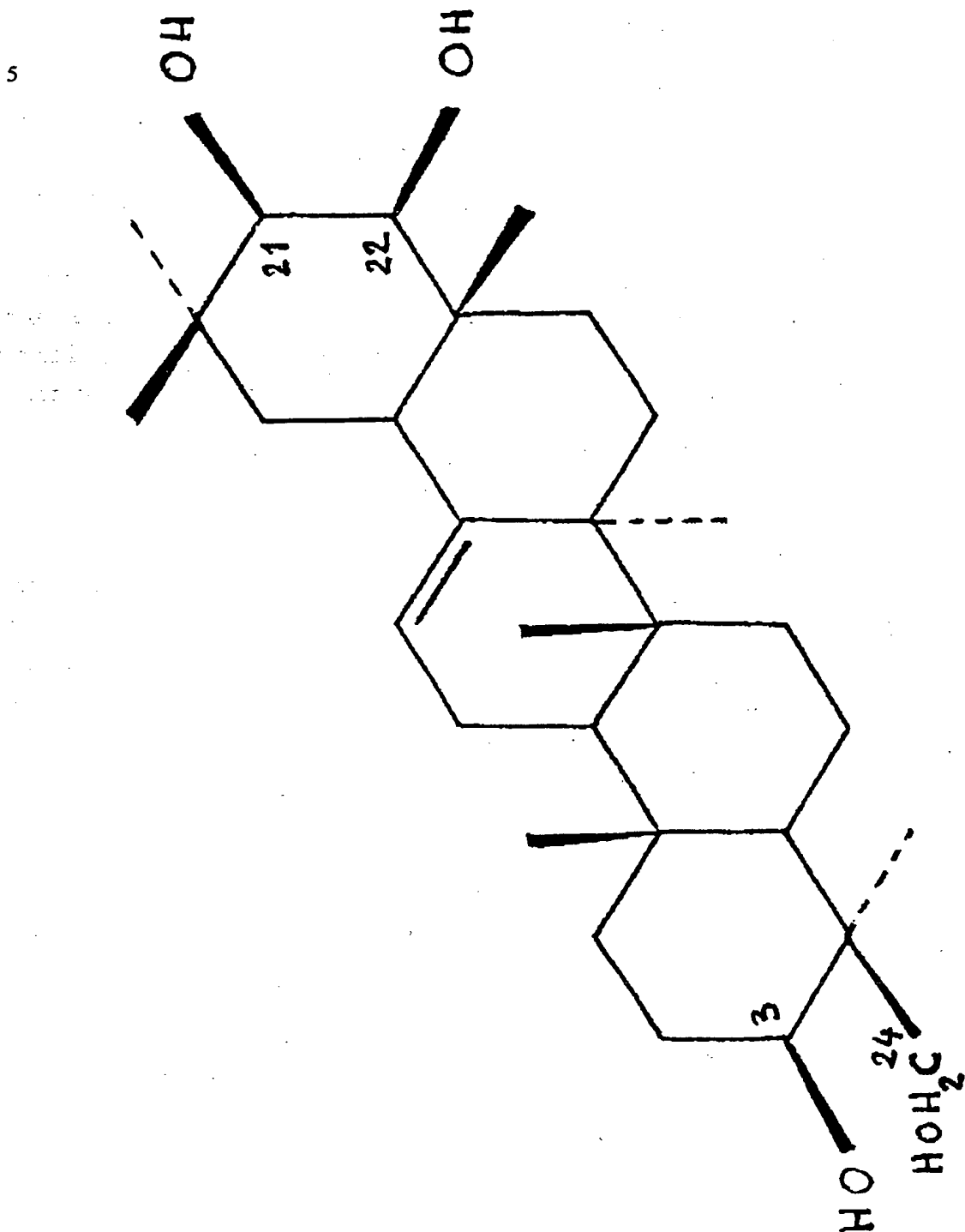
Le soja et les plantes de type Medicago telles que Medicago sativa sont des plantes particulièrement appropriés pour fournir des saponines ou sapogénols utilisables dans le cadre de l'invention, puisqu'elles/ils sont de type triterpénique et en particulier de type A ou de type B.

20 Avantageusement, ces saponines ou sapogénols de nature triterpénique comprendront des soyasaponines ou soyasapogénols triterpéniques de type A ou de type B, et pourront être extrait(e)s en particulier d'une plante de type Medicago telle que Medicago alfalfa et Medicago sativa.

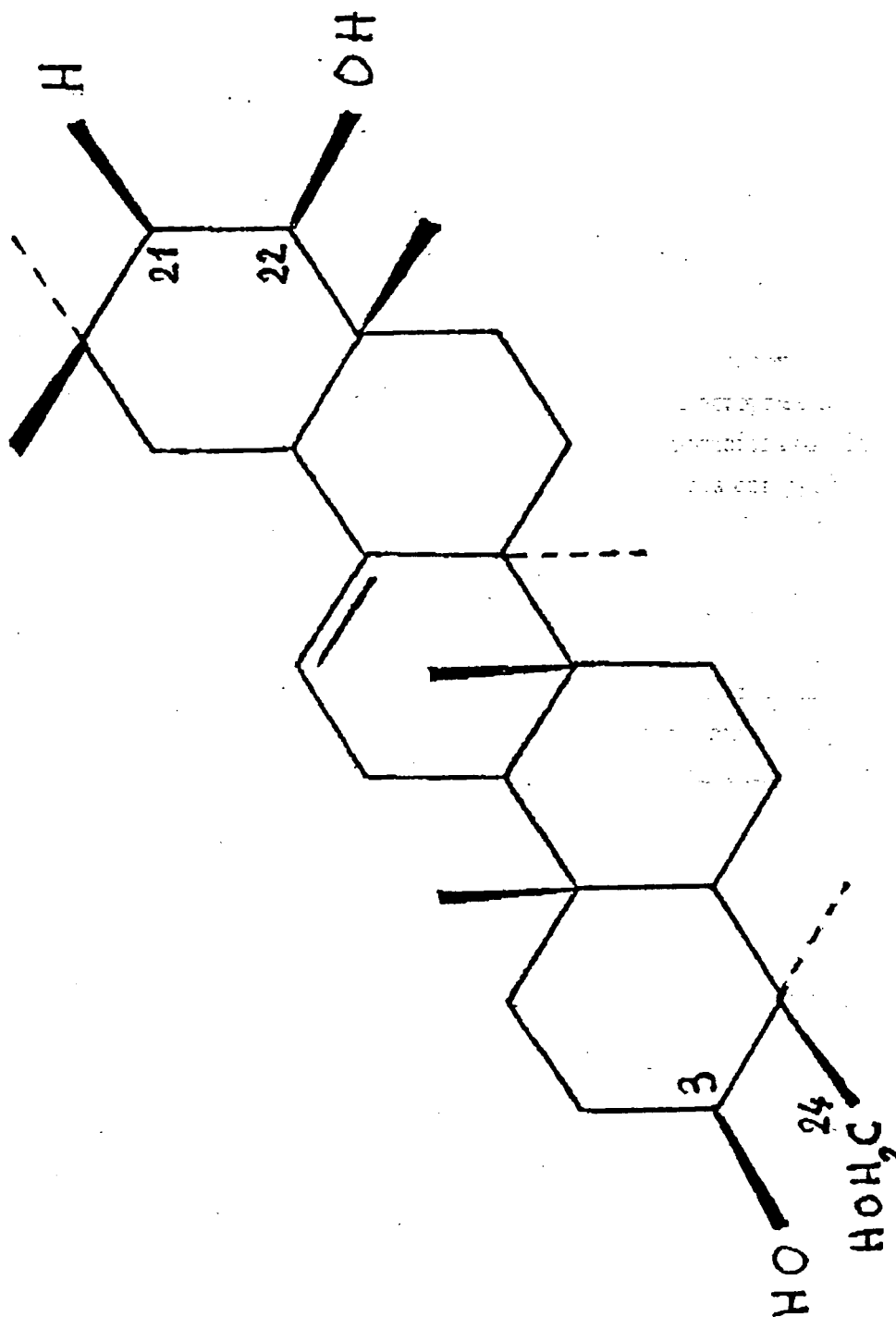
Ces soyasaponines ou soyasapogénols triterpéniques de type A ou de
25 type B sont bien connus dans la littérature (voir d'une part l'article de Georges Massiot, Catherine Lavaud, Dominique Guillaume et Louisette Le Men-Olivier dans J. Agric. Food Chem. (1988), 36, pages 902-909, et d'autre part, l'ouvrage dénommé "Saponins" de Hostettman K. et Marston A. (1995), publié par Cambridge University Press, en particulier Appendix 2, références 446 à 460, 517
30 à 519. Leur formule chimique est la suivante :

4

- soyasapogénol de type A



- soyasapogénol de type B



Les sapogénols ne comportent pas de substituant sucré et sont ainsi généralement dénommés aglycones. Par contre, ils peuvent être substitués par des sucres ou des chaînes de sucres et sont alors dénommés soyasaponines, qui peuvent ainsi être de type A ou de type B.

5

On citera par exemple :

soyasapogénol A. aglycone (selon l'appendix 2 de Hostettman et Marston (1995) - Cambridge University Press)			
Nom	Structure	Extrait de plante	Référence bibliographique
N°517 Soyasaponine A ₂	3-GlcA ² -Gal 22-Ara ³ -Glc	Glycine max (Leguminosae)	Kitagawa et al. 1985c
N°518 Soyasaponine A ₁	3-GlcA ² -Gal ² -Glc 22-Ara ³ -Glc	G. max (Leguminosae)	Kitagawa et al. 1985a
N°519 Soyasaponine A ₃	3-GlcA ² -Gal ² -Rha	G. max (Leguminosae)	Curl et al. 1988b

soyasapogénol B. aglycone (selon l'appendix 2 de Hostettman et Marston (1995) - Cambrige University Press)			
Nom	Structure	Extrait de plante	Référence bibliographique
N°446	24-Glc	Phaseolus vulgaris (Leguminosae)	Jain et al. 1988
N°447 Soyasaponine IV	3-GlcA ² -Ara	Glycine max (Leguminosae)	Burrows et al. 1987
N°448 Soyasaponine III	3-GlcA ² -Gal	G. max (Leguminosae)	Kitagawa et al. 1982
N°449 Azukisaponine II	3-GlcA ² -Glc	Vigna angularis (Leguminosae) Medicago sativa (Luguminosae)	Kitagawa et al. 1983c Kitagawa et al. 1988d
N°450 Phaseoluside A	3-Glc ⁴ -Glc 3 Glc	Phaseolus vulgaris (Leguminosae)	Jain et al. 1991
N°451 Soyasaponine II	3-GlcA ² -Ara ² -Rha	Glycine max (Leguminosae)	Kitagawa et al. 1982
N°452	3-GlcA ² -Ara ² -Rha	Oxytropis ochrocephala (Leguminosae) O.glabra (leguminasoe)	Sun et al. 1987 Sun et al. 1991
N°453 Soyasaponine V	3-GlcA ² -Gal ² -Glc	Glycine max (Leguminosae) Phaseolus vulgaris (Leguminosae)	Taniyama et al. 1988b Curl et al. 1988a

soyasapogénol B. aglycone (selon l'appendix 2 de Hostettman et Marston (1995) - Cambrige University Press) (suite)			
N°454 Soyasaponine I	3-GlcA ² -Gal ² -Rha	Glycine max (Leguminosae) Medicago sativa (Leguminosae) Pisum sativum (Leguminosae)	Kitagawa et al. 1976b Kitagawa et al. 1988d Price and Fenwick, 1984
N°456 Azukisaponine V	3-GlcA ² -Glc ² -Rha	Vigna angularis (Leguminosae) Medicago sativa (Leguminosae)	Kitagawa et al. 1983d Kitagawa et al. 1988d
N°457	3-GlcA ⁴ -Glc ² -Rha	Oxytropis ochrocephala (Leguminosae)	Sun et al. 1987
N°458 Astragaloside VIII	3-GlcA ² -Xyl ² -Rha	Astragalus membranaceus (Leguminosae)	Kitagawa et al. 1983e
N°459	3-GlcA ⁴ -Glc ² -Rha 2 Glc	Oxytropis glabra (Leguminosae)	Sun and Jia, 1990
N°460	3-GlcA ² -Gal ² -Rha 6 Glc	Crotalaria albida (Leguminosae)	Ding et al. 1991a

Les saponines ou sapogénols précités triterpéniques peuvent être extraits à partir de toute partie de la plante mais seront de préférence extraits à partir des racines dans le cas de Medicago et des graines dans le cas du soja.

Les conditions d'extraction sont bien connues de l'homme du l'art qui pourra, par exemple, se reporter au document WO 92/09262 incorporé ici par référence.

Dans le cadre de l'utilisation conforme à la présente invention, la proportion en saponine(s) ou en sapogénol (s) ou en extrait végétal en contenant est avantageusement comprise entre 0,001 % et 5 %, mieux entre 0,01 et 2 %, en poids, par rapport au poids total de la composition cosmétique ou pharmaceutique finale.

Il a également été découvert, de façon tout à fait inattendue que l'effet bénéfique des saponines et des sapogénols, quelle que soit leur nature, c'est-à-dire même si ladite saponine ou ledit sapogénol n'est pas de nature triterpénique, bien que l'emploi d'une saponine ou d'un sapogénol de nature triterpénique, de préférence de type A ou de type B, soit préféré, peut être sensiblement augmenté lorsque ces composés sont utilisés en association avec un ecdystéroïde ou un dérivé acétylé d'ecdystéroïde comme, en particulier, la β -ecdysone ou ecdystérone.

Les ecdystéroïdes, et en particulier l'ecdystérone sont des substances naturelles bien connues, présentes notamment chez les insectes et dans certaines plantes telles que *Polypodium vulgare* et *Cyanotis arachnoidea*.

Dans le cadre d'une utilisation associant une saponine ou un sapogénol et un ecdystéroïde, ces composés seront utilisés de préférence dans un rapport pondéral compris entre 1:10 et 10:1 et de préférence encore égal à 1:1.

Les saponines ou sapogénols peuvent en outre être utilisées en association avec une autre substance active par exemple choisie parmi le groupe constitué par l'acide madécassique, l'acide asiatique, le madécassoside, l'asiaticoside, l' α -1-protéinase inhibiteur, les inhibiteurs de collagénase tels que l'acide rétinolique, les inhibiteurs d'élastase, la lysine, la proline, le 2-oxoglutarate, le ginsénoside R_g, la vitamine D et ses dérivés, les vitamines, en particulier la vitamine A, B ou E ; les xanthines, la tyrosine ou ses dérivés comme par exemple le tyrosinate de glucose, la malytyrosine, la quinine ou ses dérivés, les rubéfiants tels que le nicotinate de méthyle, des hydrolysats de kératine, des oligoéléments tels que le zinc, le sélénium, cuivre, des inhibiteurs de 5- α -réducteurs tels que progestérone, l'acétate de cyprotérone, le minoxidil, l'acide azélaïque et ses dérivés, le 1,4-méthyl-4-azastéroïde, en particulier la 17- β -N,N-diéthylcarbamoyle-4-méthyl-4-aza-5- α -androstane-3-one, ou encore un extrait de *Serenoa repens*.

Dans ce cas, la concentration en cette (ou ces) autre(s) substance(s) active(s) est comprise entre 0,0001 % et 5 % en poids par rapport au poids de la composition finale.

Ces substances, incluant les saponines ou sapogénols, peuvent éventuellement être incorporées au moins en partie dans des phases lamellaires lipidiques hydratées ou dans des vésicules de type liposomes.

Selon un quatrième aspect, la présente demande vise à couvrir de
5 nouvelles compositions cosmétiques ou pharmaceutiques favorisant l'augmentation de la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

Ces compositions sont essentiellement caractérisées par le fait qu'elles contiennent une quantité efficace de l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol, quelle que soit sa nature, pour être de nature non triterpénique, mais de
10 préférence au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique, encore de préférence de type A ou de type B, avec au moins un ecdystéroïde, en particulier la β -ecdysone ou ecdystérone.

Dans ce cas, la saponine ou le sapogénol précité et l'ecdystéroïde précité sont associés dans un rapport pondéral compris entre 1 : 10 et 10 : 1, et de
15 préférence égal à 1 : 1.

Selon un cinquième aspect, la présente demande vise à couvrir un procédé de traitement cosmétique dans lequel on procède à l'administration topique à une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace d'au moins une saponine ou d'au moins un sapogénol tel que défini précédemment éventuellement
20 en association avec une ou plusieurs autres substances actives telles que mentionnées ci-dessus et/ou en association avec un ecdystéroïde, en particulier l'ecdystérone.

D'autres buts, caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront clairement à la lecture de la description explicative qui va suivre faite en référence
25 à plusieurs exemples donnés à titre d'illustration et qui ne sauraient donc en aucune façon limiter la portée de l'invention.

Dans les exemples, les pourcentages sont exprimés en poids, la température est la température ambiante, et la pression est la pression atmosphérique, sauf indication contraire. Dans le cas des extraits, les quantités de
30 ceux-ci sont exprimées en poids sec.

Exemple 1

Mise en évidence de l'augmentation de la quantité de collagène IV avec des saponines extraites de graines de soja

Dans cet exemple, on utilise un extrait de graines de soja, disponible
5 dans le commerce sous la référence SOY SELECT LOT 26040/2 auprès de la société italienne Indena.

Cet extrait contient selon les informations commerciales des saponines de la catégorie des "soyasaponines" en proportion de 29 à 30 % en poids sec, comprenant majoritairement des soyasapogénols du groupe B.

10 Afin de valider la pertinence du protocole expérimental choisi, une série de ces essais ont été réalisés avec un témoin positif, le Transforming Growth Factor - beta (TGF-beta), connu comme augmentant la quantité de collagène IV dans une culture de kératinocytes humains. On pourra se reporter à l'article de Köning A., Bruckner-Tuderman L. ; J. Cell. Biol. ; 1992 May ;117 (3) ;679-85.

15

1. Protocole du test

a. Provenance des kératinocytes :

Les cultures de kératinocytes humains normaux (KHN) sont établies à partir d'un prélèvement chirurgical de peau saine. Dans la présente étude, les tests
20 ont été réalisés sur une souche cellulaire provenant d'un lifting d'une femme caucasienne de 44 ans, souche notée KH 44.

b. Conditions de culture :

Les kératinocytes sont cultivés dans le milieu de croissance K-SFM, qui est un milieu spécifique de culture des kératinocytes, SFM (Serum Free Medium) complet, complémenté en EGF (Epidermal Growth Factor) et en extrait
25 pituitaire, commercialisé par la société Gibco, France. Les cellules ont été sous-cultivées une fois à partir de la primoculture selon un passage, noté P1.

30 c. Conditions de traitement :

L'ensemencement des cellules est réalisé en plaques de culture à 96 puits à raison de 25 000 KHN par puits dans le milieu K-SFM. Après 24 h d'incubation nécessaire à la bonne adhérence des cellules, le milieu d'ensemencement est retiré et remplacé par du milieu K-SFM dilué au 50^e dans le même
35 milieu de base, mais dépourvu de EGF et d'extrait pituitaire.

On ajoute alors le produit à tester selon l'invention que l'on dissout dans le DMSO à diverses concentrations reportées au tableau I ci-après, et que l'on cultive pendant 72 h.

Les témoins recevront la même quantité de solvant DMSO que pour le produit testé à 0,1 % final.

Les surnageants de culture sont récupérés pour réaliser un dosage ELISA comme expliqué ci-après.

d. Dosage ELISA du collagène IV :

Le protocole du dosage du collagène IV par une méthode ELISA est adapté de celui décrit par DUMAS M. et al. dans Mechanisms of Ageing and Development, 1994, 73, pages 179-187.

On utilise un anticorps anti-collagène IV humain fourni par l'Institut Pasteur, Lyon, France. Une courbe d'étalonnage est effectuée avec du collagène IV de placenta humain de chez Sigma. Parallèlement, un dosage global des protéines est effectué par la technique à l'acide bicinchoninique, kit BCA, commercialisé par la société Sigma, France, dans le but de rapporter la quantité de collagène IV au taux de protéines cellulaires.

Six cultures sont réalisées pour chacune des trois concentrations et pour l'essai témoin.

e. Expression des résultats et interprétation statistique

Les résultats de l'augmentation de la quantité de collagène IV dans une culture de kératinocytes sont exprimés en nanogrammes de collagène IV pour 100 µg de protéines après culture pendant 72h.

L'activité A du produit est exprimée en pourcentage et correspond à la formule suivante :

$$A = \left(\frac{Q_s - Q_t}{Q_t} \right) \times 100$$

où :

- Qs est la quantité de collagène IV des KHN traités exprimée en ng pour 100 µg de protéines, après 72 heures.
- Qt est la quantité de collagène IV des KHN témoins DMSO exprimée en ng pour 100 µg de protéines, après 72 heures.

Les résultats obtenus sur les cultures traitées (n=6) et témoins (n=6) sont comparés par le test t de Student non apparié, le seuil de significativité étant $p = 0,05$.

5 2. Résultats-conclusion

Les résultats sont reportés au tableau I ci-après, à partir de la moyenne des mesures sur les différentes cultures :

10

TABLEAU I

PRODUIT	Q (ng de coll IV/100 µg de protéines ; à 72 h)	A (%)	Significativité $p = 0,05$
témoin DMSO	3,743±0,443	0	
témoin positif (TGF-beta) 10 ng/ml	5,615±0,595	+50	S
saponines de soja 2,5 µg/ml	3,931±0,426	+5	NS
saponines de soja 5 µg/ml	4,474±0,511	+19	S
saponines de soja 10 µg/ml	4,762±0,591	+27	S
saponines de soja 25 µg/ml	5,152±0,596	+37,5	S

S= significatif

NS = non significatif

15

On notera que le taux de collagène IV est exprimé en nanogrammes pour 100 µg de protéines après 72 h de contact avec les cellules.

Il apparaît clairement que les saponines testées augmente significativement la quantité de collagène IV dans une culture de kératinocytes humains.

20

On notera également que le témoin positif (TGF-beta) répond significativement au protocole expérimental choisi, ce qui confirme sa validation et la pertinence des essais réalisés.

Ainsi, les saponines, en particulier celles extraites du soja, peuvent être utilisées en cosmétique ou en pharmacie ou dermopharmacie pour augmenter

25

la quantité de collagène IV. Dans ce cas, elles permettent de renforcer la structure et les propriétés de la jonction dermo-épidermique, zone d'échange entre le derme et l'épiderme et zones très importantes pour les processus de différenciation des kératinocytes.

5

Exemple 2

Mise en évidence de l'augmentation de la quantité de collagène IV en présence de saponines de Medicago

Cet essai est réalisé de la façon suivante :

10 Le produit à tester constitué par des saponines de racines de Medicago sativa, est disponible dans le commerce et commercialisé par la société Berkem, sous la forme d'une poudre.

Les tests ont été réalisés en aveugle, le produit étant dénommé saponine Medicago.

15

1. Protocole du test

a. Provenance des kératinocytes

20 Les cultures de kératinocytes humains normaux (KHN) sont établies à partir d'un prélèvement chirurgical de peau saine. Dans la présente étude, les tests ont été réalisés sur une souche cellulaire provenant d'un lifting d'une femme caucasienne de 48 ans, souche notée KHN 555.

b. Conditions de culture

25 Les kératinocytes sont cultivés de la même manière que celle décrite à l'exemple précédent, si ce n'est que les cellules ont été sous-cultivées 4 fois et récoltées au stade de la 4^e sous-culture ou 4^e passage, noté P4.

c. Conditions de traitement

30 L'ensemencement des cellules est réalisé en plaques de culture à 96 puits en raison de 30 000 KHN par puits dans le milieu K-SFM.

Après 24 h d'incubation nécessaire à la bonne adhérence des cellules, le milieu est remplacé par un milieu K-SFM dilué à 2 %, limitant la prolifération des kératinocytes.

35 Les produits selon l'invention sont préparés extemporanément dans le DMSO à une proportion respectivement de 2,5-10 et 25 mg/ml à partir du produit disponible dans le commerce, et ces solutions mères sont introduites dans le

milieu d'étude à 0,1 % V/V final, soit des concentrations testées à 2,5-10 et 25 µg/ml. Le témoin reçoit l'excipient des produits, soit 0,1 % V/V de DMSO.

L'absence de cytotoxicité du produit selon l'invention aux différentes concentrations testées a été démontrée par ailleurs à l'aide des tests de viabilité XTT de chez BOEHRINGER, France.

Après 48 h de traitement, les surnageants en incubation sont prélevés en vue du dosage du collagène IV présent. Un dosage des protéines est effectué sur le tapis cellulaire restant dans les puits selon la méthode BCA de chez SIGMA, dans le but de ramener la quantité de collagène IV présent au taux de protéines cellulaires.

d. Dosage ELISA du collagène IV

Le protocole de dosage est le même que celui de l'exemple 1, mais les modifications suivantes ont été apportées dans la mise au point du dosage.

- Premier anticorps : anticorps monoclonal de lapin anti-collagène IV humain de l'INSTITUT PASTEUR DE LYON, Réf. 20411.
- Gamme étalon réalisée avec du collagène de type IV humain d'origine placentaire humaine, SIGMA référencé C5533.

e. Expression des résultats et interprétation statistique

Les résultats des expériences exprimés selon la méthode décrite au e) de l'exemple 1, font l'objet du tableau II ci-après.

2. Résultats-conclusion

Les résultats sont donnés dans le tableau II ci-après à partir de la moyenne des mesures sur les différentes cultures :

TABLEAU II

PRODUITS	Q (ng de coll IV/ 100 µg prot. ; à 48 h)	A(%)	Significativité p = 0,05
TEMOIN K-SFM 2 % + DMSO 0,1 %	1,565+/-0,314	0	
saponines de luzerne (2,5 µg/ml)	1,745+/-0,409	+11	NS
saponines de luzerne (10 µg/ml)	2,858+/-0,529	+ 83	S
saponines de luzerne (25 µg/ml)	2,336+/-0,523	+ 49	S

S = significatif

NS : non significatif

On constate une augmentation significative de la quantité de collagène IV présent dans les cultures de kératinocytes humains normaux, réalisées en présence de saponines de racines de *Medicago sativa* ou luzerne. Les concentrations actives de saponines sont de 10 et 25 µg/ml avec le maximum d'activité à 10 µg/ml.

Ainsi, le produit selon l'invention est actif et peut être utilisé comme agent cosmétique pour fabriquer des compositions cosmétiques, pharmaceutiques ou dermatologiques permettant de renforcer la cohésion derme-épiderme comme pour l'exemple 1.

Exemple 3

Mise en évidence de l'augmentation de la quantité de collagène IV en présence de saponines extraites de graines de soja et de bêta-ecdysone.

Le protocole est le même que celui décrit dans l'exemple 1, ceci près différence que l'extrait de graines de soja (référence SOY SELECT LOT 26040/2 disponible auprès de la société italienne Indena) est utilisé associé avec de la bêta-ecdysone, dans un rapport pondéral 1/1 pour ces deux éléments, et que le temps de contact entre les produits à tester et les cellules est de 48 heures (au lieu de 72 heures).

Les résultats sont donnés dans le tableau III ci-après à partir de la moyenne des mesures sur les différentes cultures :

TABLEAU III

PRODUIT	Q (ng de coll IV/100 µg de protéines ; à 48 h)	A (%)	Significativité p = 0,05
témoin DMSO	1,565±0,314	0	
saponines de soja 2,5 µg/ml	1,643±0,320	+5	NS
saponines de soja 2,5 µg/ml et bêta-ecdysone 2,5 µg/ml	2,441±0,360	+56	S
saponines de soja 5 µg/ml	1,682±0,317	+7,5	NS
saponines de soja 5 µg/ml et bêta-ecdysone 5 µg/ml	2,081±0,340	+33	S
saponines de soja 10 µg/ml	1,972±0,331	+26	S
saponines de soja 10 µg/ml et bêta-ecdysone 10 µg/ml	2,003±0,336	+28	S
saponines de soja 20 µg/ml	1,975±0,335	+26	S
saponines de soja 20 µg/ml et bêta-ecdysone 20 µg/ml	1,998±0,342	+27,5	S

5 S= significatif

NS = non significatif

On constate à la lecture du tableau III, que l'utilisation de l'association, ou combinaison, des saponines de soja avec de la bêta-ecdysone, à certaines concentrations (2,5 et 5 µg/ml pour chacun des deux éléments) est encore plus efficace que l'utilisation des saponines de soja seules pour augmenter la quantité de collagène IV dans un milieu où sont présents des kératinocytes humains normaux.

La même expérience a été conduite en utilisant de la bêta-ecdysone seule. Aucune augmentation de la quantité de collagène IV n'a été constatée.

Les inventeurs ont donc conclu qu'il existe un effet de synergie entre les saponines de soja et la bêta-ecdysone pour ce qui est de la capacité de ces éléments à provoquer une augmentation de la quantité de collagène IV dans un milieu où sont présents des kératinocytes humains normaux.

La combinaison d'une saponine de soja avec la bêta-ecdysone semble donc être très efficace comme moyen pour augmenter la quantité de collagène IV dans un milieu où sont présents des kératinocytes humains normaux.

Ainsi, l'association de saponine et d'ecdystéroïde selon l'invention présente un grand intérêt pour des applications cosmétiques et pharmaceutiques, notamment dermatologiques.

5

Exemple 4Crème luttant contre les marques du vieillissement

Rétinol	4000	UI
Saponines de soja de type B	0,01	g
Glycérine	3	g
Extrait de Commiphora mukkul	0,1	g
Excipient émulsion fluide	qsp. 100	g

A utiliser le soir pour traiter les rides, appliquer cette émulsion fluide en la faisant pénétrer.

10

Exemple 5Crème anti-rides et préventive du photovieillissement

Rétinol	2000	UI
Palmitate de rétinol	0,01	g
Palmitate d'ascorbyl	0,1	g
Protéines de Blé	3	g
Saponines de soja	0,05	g
Madécassoside	0,05	g
Parsol MCX	7	g
Benzophénone 3	1	g
Beurre de Karité	1	g
Excipient crème parfumée	qsp. 100	g

Appliquer cette crème dès la fin d'après-midi, permet de réparer les rides de l'intérieur, et de protéger la peau des derniers rayons de soleil.

REVENDICATIONS

1. Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique, cosmétiquement acceptable, en particulier une saponine ou un
5 sapogénol extrait de plante, de préférence de soja ou d'une plante de type Medicago, ou d'un extrait végétal riche en de tels composés, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

2. Utilisation selon la revendication 1, d'au moins une saponine ou un
10 sapogénol de nature triterpénique, extrait(e) d'une plante riche en de tels composés choisie parmi : Glycine max (soja), Phaseolus vulgaris, Phaseolus aureus, Phaseolus lunatus, Vicia faba, Lens culinaris, Cicer arietum, Vigna angularis, Vigna mungo, Oxytropis ochrocephala, Oxytropis glabra, Pisum sativum, Sophora favesces, Asparalus membranaceus, Crotalaria albida, Arachis hypogea, Galega
15 officinalis, Wistaria brachybotrys, Trifolium repens, ou une plante du type Medicago, en particulier Medicago alfalfa et Medicago sativa ou "luzerne".

3. Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique, pharmaceutiquement acceptable, en particulier une saponine ou un
20 sapogénol extrait de plante, de préférence de soja ou d'une plante de type Medicago, ou d'un extrait végétal riche en de tels composés, pour la fabrication d'une composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la jonction dermo-épidermique résultant d'une quantité insuffisante de collagène IV.

4. Utilisation selon la revendication 3, d'au moins une saponine ou un
25 sapogénol de nature triterpénique, extrait(e) d'une plante riche en de tels composés, choisie parmi : Glycine max (soja), Phaseolus vulgaris, Phaseolus aureus, Phaseolus lunatus, Vicia faba, Lens culinaris, Cicer arietum, Vigna angularis, Vigna mungo, Oxytropis ochrocephala, Oxytropis glabra, Pisum sativum, Sophora favesces, Asparalus membranaceus, Crotalaria albida, Arachis
30 hypogea, Galega officinalis, Wistaria brachybotrys, Trifolium repens, ou une plante du type Medicago, en particulier Medicago alfalfa et Medicago sativa ou "luzerne".

5. Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol, extrait(e)
d'une plante riche en de tels composés, ladite plante étant choisie parmi : Glycine
35 max (soja), Phaseolus vulgaris, Phaseolus aureus, Phaseolus lunatus, Vicia faba, Lens culinaris, Cicer arietum, Vigna angularis, Vigna mungo, Oxytropis

ochrocephala, Oxytropis glabra, Pisum sativum, Sophora favesces, Asparalus membranaceus, Crotalaria albida, Arachis hypogea, Galega officinalis, Wistaria brachybotrys, Trifolium repens, ou une plante du type Medicago, en particulier Medicago alfalfa et Medicago sativa ou "luzerne" ; comme agent cosmétique
5 destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique.

6. Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol, extrait(e) d'une plante riche en de tels composés, ladite plante étant choisie parmi : Glycine max (soja), Phaseolus vulgaris, Phaseolus aureus, Phaseolus lunatus, Vicia faba,
10 Lens culinaris, Cicer arietum, Vigna angularis, Vigna mungo, Oxytropis ochrocephala, Oxytropis glabra, Pisum sativum, Sophora favesces, Asparalus membranaceus, Crotalaria albida, Arachis hypogea, Galega officinalis, Wistaria brachybotrys, Trifolium repens, ou une plante du type Medicago, en particulier Medicago alfalfa et Medicago sativa ou "luzerne" ; pour la fabrication d'une
15 composition pharmaceutique, notamment dermatologique, destinée à traiter les pathologies liées à une déficience de la jonction dermo-épidermique résultant d'une quantité insuffisante de collagène IV.

7. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes d'au moins une saponine ou un sapogénol triterpénique, extrait(e) d'une plante de
20 type Medicago telle que Medicago alfalfa et Medicago sativa.

8. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes d'au moins une saponine ou un sapogénol extrait(e) de soja.

9. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la saponine ou le sapogénol précité est extrait à partir de
25 toute partie de la plante, de préférence à partir des racines dans le cas de Medicago et des graines dans le cas du soja.

10. Utilisation l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la saponine ou le sapogénol précité est une soyasaponine ou un soyasapogénol triterpénique de type A ou de type B.

30 11. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la proportion en saponine(s) ou en sapogénol (s) ou en extrait végétal en contenant est comprise entre 0,001 % et 5 %, mieux entre 0,01 et 2 %, en poids, par rapport au poids total de la composition cosmétique ou pharmaceutique finale.

35 12. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que la saponine ou le sapogénol est utilisé en association avec au moins un

ecdystéroïde ou avec au moins un dérivé acétylé d'ecdystéroïde, en particulier avec la beta-ecdysone ou ecdystérone.

13. Utilisation selon l'une des revendications précédentes, caractérisée en ce que la saponine ou le sapogénol est utilisé en association avec au moins une
5 autre substance active par exemple choisie parmi le groupe constitué par l'acide madécassique, l'acide asiatique, le madécassoside, l'asiaticoside, l' α -1-protéinase inhibiteur, les inhibiteurs de collagénase tels que l'acide rétinolique, les inhibiteurs d'élastase, la lysine, la proline, le 2-oxoglutarate, le ginsénoside R₀, la vitamine D et ses dérivés, les vitamines, en particulier la vitamine A, B ou E ; les xanthines, la
10 tyrosine ou ses dérivés comme par exemple le tyrosinate de glucose, la malytyrosine, la quinine ou ses dérivés, les rubéfiants tels que le nicotinate de méthyle, des hydrolysats de kératine, des oligoéléments tels que le zinc, le sélénium, cuivre, des inhibiteurs de 5- α -réducteurs tels que progestérone, l'acétate de cyprotérone, le minoxidil, l'acide azélaïque et ses dérivés, le 1,4-méthyl-4-
15 azastéroïde, en particulier la 17- β -N,N-diéthylcarbamoyle-4-méthyl-4-aza-5- α -androstan-3-one, ou encore un extrait de *Serenoa repens*.

14. Utilisation selon la revendication 13, caractérisée en ce que la concentration en cette (ou ces) autre(s) substance(s) active(s) est comprise entre 0,0001 % et 5 % en poids par rapport au poids de la composition finale.

15. Composition cosmétique ou pharmaceutique favorisant
20 l'augmentation de la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique, caractérisée en ce qu'elle contient une quantité efficace de l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol tels que définis à l'une quelconque des revendications 1 à 11, avec au moins un ecdystéroïde, ou avec au
25 moins un dérivé acétylé d'ecdystéroïde, en particulier avec la beta-ecdysone ou ecdystérone.

16. Composition selon la revendication 15, caractérisée en ce que la saponine ou le sapogénol précité et l'ecdystéroïde précité sont associés dans un rapport pondéral compris entre 1 : 10 et 10 : 1, et de préférence égal à 1 : 1.

17. Procédé de traitement cosmétique, caractérisé en ce que l'on
30 procède à l'administration topique à une personne en ayant besoin, d'une quantité efficace d'au moins une saponine ou d'au moins un sapogénol, tels que définis à l'une quelconque des revendications 1 à 11, permettant d'augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique, ladite saponine ou ledit
35 sapogénol étant éventuellement administré en association avec une ou plusieurs autre(s) substance(s) active(s) telle(s) que définie(s) à la revendication 13 ou en

association avec un ecdystéroïde, ou avec au moins un dérivé acétylé d'ecdystéroïde, en particulier avec la beta-ecdysone ou ecdystérone ; de préférence pour réaliser un traitement anti-rides.



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁶ : A61K 7/48	A3	(11) Numéro de publication internationale: WO 99/62480 (43) Date de publication internationale: 9 décembre 1999 (09.12.99)
(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR99/01260 (22) Date de dépôt international: 28 mai 1999 (28.05.99) (30) Données relatives à la priorité: 98/06821 29 mai 1998 (29.05.98) FR (71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): PARFUMS CHRISTIAN DIOR [FR/FR]; 33, avenue Hoche, F-75008 Paris (FR). (72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): BONTE, Frédéric [FR/FR]; 54, rue Tudelle, F-45100 Orléans (FR). DUMAS, Marc [FR/FR]; 61, Résidence le Windsor, 47ter, avenue de la Mouillère, F-45100 Orléans (FR). PERRIER, Pierre [FR/FR]; 22, rue Jousselin, F-45000 Orléans (FR). (74) Mandataires: PORTAL, Gérard etc.; Cabinet Beau de Loménie, 158, rue de l'Université, F-75340 Paris Cedex 07 (FR).		(81) Etats désignés: JP, US, brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> (88) Date de publication du rapport de recherche internationale: 20 juillet 2000 (20.07.00)
(54) Title: USE OF AT LEAST A COSMETICALLY ACCEPTABLE SAPONIN OR SAPOGENOL AS COSMETIC AGENT FOR INCREASING THE AMOUNT OF COLLAGEN IV IN THE DERMAL-EPIDERMAL JUNCTION (54) Titre: UTILISATION D'AU MOINS UNE SAPONINE OU UN SAPOGENOL COSMETIQUEMENT ACCEPTABLE, COMME AGENT COSMETIQUE DESTINE A AUGMENTER LA QUANTITE DE COLLAGENE IV DANS LA JONCTION DERMAL-EPIDERMIQUE (57) Abstract <p>The invention generally concerns the use of saponins or sapogenols in particular extracted from plants, preferably soya or Medicago, in cosmetology and for making pharmaceutical compositions for skin treatment to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. The invention also concerns novel cosmetic compositions promoting the increase of the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction and a cosmetic treatment method using a saponin or sapogenol. The invention is applicable in cosmetics preferably in anti-wrinkle treatment and in pharmaceuticals for treating diseases related to dermal-epidermal junction deficiency resulting from an insufficient amount of collagen IV.</p> (57) Abrégé <p>La présente invention concerne généralement l'utilisation de saponines ou sapogénols en particulier extraits de plante, de préférence de soja ou de Medicago, en cosmétologie ainsi que pour la fabrication de compositions pharmaceutiques destinées au traitement de la peau en vue d'augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Elle concerne également de nouvelles compositions cosmétiques ou pharmaceutiques favorisant l'augmentation de la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique ainsi qu'un procédé de traitement cosmétique utilisant une saponine ou un sapogénol. L'invention trouve application en cosmétique de préférence dans le traitement anti-rides et en pharmacie dans le traitement des maladies liées à une déficience de la jonction dermo-épidermique résultant d'une quantité insuffisante de collagène IV.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakhstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LI	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 99/01260

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 6 A61K7/48

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 96 25143 A (LVMH RECHERCHE) 22 August 1996 (1996-08-22)	1,3,9, 11,13, 14,17
Y	claims 1-4,7-11,14-18; examples 1-11	12,17
A	GOMES DA SILVA, W: "The Brazil Nut (Bertholletia excelsa H.B.K.- Family: Lecythidaceae). Note II: Lipids: Study of the Chemical Composition." RIVISTA ITALIANA DELLE SOSTANZE GRASSE, vol. 74, no. 7, 1997, pages 311-314, XP000852534 Milano (IT) abstract table V	1,3,9, 11,13, 14,17

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 December 1999

Date of mailing of the international search report

20.04.00

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

SIERRA GONZALEZ, M

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/FR 99/01260

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 128, no. 4, 26 January 1998 (1998-01-26) Columbus, Ohio, US; abstract no. 32365, EL-SHAMY, ALI M. ET AL: "Phytochemical study of Clerodendron inerme L. growing in Egypt" XP002124534 abstract & ZAGAZIG J. PHARM. SCI. (1996), 5(2), 49-53,1996,	
X	WO 97 28814 A (SEROBIOLOGIQUES SOCIETE ANONYM ;PAULY GILLES (FR); PAULY MARC (FR)) 14 August 1997 (1997-08-14) page 2, line 1-10 page 3, line 13-22 claims 1-8	1,3,9,17
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 116, no. 5, 3 February 1992 (1992-02-03) Columbus, Ohio, US; abstract no. 37930, R. ZAFAR: "Chemical examination of the leaves of Diospyros montana Roxb" XP002124547 abstract & INDIAN DRUGS, vol. 28, no. 9, 1991, pages 28-29,	1,3,9,17
X	EP 0 826 367 A (LVMH RECH) 4 March 1998 (1998-03-04)	15,16
Y	page 2, line 14,28-37 claims 1,5,6,10,11	12,17
A	A.Y LEUNG: "Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics" 1996 , WILEY-INTERSCIENCE PUBLICATION , NEW YORK (USA) XP002099892 page 284, column 1, paragraph 3 page 28, column 2, paragraph 3 page 285, column 1, line 2	1-3,5-7, 13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR99/01260

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see supplemental sheet ADDITIONAL MATTER PCT/ISA/210

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

see supplemental sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

1 3 9-17 (all partially)

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

ADDITIONAL MATTER PCT/ISA/210

1. Claims: 1, 3, 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol, or of an extract rich in said compounds, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or a sapogenol with an ecdysteroid; said use and said composition not comprising the features of inventions 2-21.

2. Claims: 1-6 (all partly) 7 (wholly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from a Medicago-type plant, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from a Medicago-type plant with an ecdysteroid.

3. Claims: 1-6 (all partly) 8 (wholly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from soybean as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from soybean with an ecdysteroid.

4. Claims: 1-6 (all partly) 9 (wholly) and 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from Phaseolus vulgaris, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from Phaseolus vulgaris with an ecdysteroid.

5. Claims 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from Phaseolus aureus, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from Phaseolus aureus with an ecdysteroid.

6. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from Phaseolus lunatus, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from Phaseolus lunatus with an ecdysteroid.

7. Claims 1-6 (all partly) 9-17 (all partially)

Use of at least a tripterpenic saponin or sapogenol extracted from Vicia faba, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction.

ADDITIONAL MATTER PCT/ISA/210

Cosmetic or pharmaceutical containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Vicia faba* with an ecdysteroid.

8. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Lens culinaris*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Lens culinaris* with an ecdysteroid.

9. Claims 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Cicer arietum*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing at least a combination of a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Cicer arietum* with an ecdysteroid.

10. Claims 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Vigna angularis*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Vigna angularis* with an ecdysteroid.

11. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Vigna mungo*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Vigna mungo* with an ecdysteroid.

12. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Oxytropis ochrocephala*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Oxytropis ochrocephala* with an ecdysteroid.

13. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Oxytropis glabra*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Oxytropis glabra* with an ecdysteroid.

14. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Pisum sativum*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction.

ADDITIONAL MATTER

Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Pisum sativum* with an ecsysteroid.

15. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Sophora faveszens*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Sophora faveszens* with an ecsysteroid.

16. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Asparalus membranaceus*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Asparalus membranaceus* with an ecsysteroid.

17. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Crotalaria albida*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Crotalaria albida* with an ecsysteroid.

18. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Arachis hypogea*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Arachis hypogea* with an ecsysteroid.

19. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Galega officinalis*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Galega officinalis* with an ecsysteroid.

20. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Wistaria brachybotrys*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction. Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Wistaria brachybotrys* with an ecsysteroid.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/FR99/01260

ADDITIONAL MATTER

PCT/ISA/210

21. Claims: 1-6 (all partly) 9-17 (all partly)

Use of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Trifolium repens*, as cosmetic agent designed to increase the amount of collagen IV in the dermal-epidermal junction.

Cosmetic or pharmaceutical composition containing a combination of at least a triterpenic saponin or sapogenol extracted from *Trifolium repens* with an ecsysteroid.

ADDITIONAL MATTER PCT/ISA/210

Continuation of Box I.2

Claims n° : 1, 3 9-17

Claims 1, 3 and 9-17 of the present application concern a very large variety of compounds: triterpenic saponins or sapogenols. However, a support basis as defined by PCT Article 6 and/or a disclosure as defined by PCT Article 5 can only be found for a very limited number of said claimed compounds. In the present case, the claims are so lacking in support basis and the disclosure of the invention in the description is so limited that it is not possible to carry out a significant search covering the whole spectrum claimed. Consequently, the search concerning the first invention was restricted to the general concept underlying the present application.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, concerning inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of a preliminary examination report (PCT Rule 66.1 (e)). The applicant is warned that the guideline adopted by the EPO acting in its capacity as International Preliminary Examining Authority is not to proceed with a preliminary examination of a subject matter unless a search has been carried out thereon. This position will remain unchanged, notwithstanding that the claims have or have not been modified, either after receiving the search report, or during any procedure under Chapter II.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 99/01260

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
W0 9625143 A	22-08-1996	FR 2730635 A AU 4835496 A EP 0809484 A JP 11500432 T	23-08-1996 04-09-1996 03-12-1997 12-01-1999
W0 9728814 A	14-08-1997	FR 2744366 A AU 1728597 A	08-08-1997 28-08-1997
EP 0826367 A	04-03-1998	FR 2752527 A JP 10203992 A US 6004568 A	27-02-1998 04-08-1998 21-12-1999

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dernière Internationale No
PCT/FR 99/01260

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 6 A61K7/48

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
CIB 6 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	WO 96 25143 A (LVMH RECHERCHE) 22 août 1996 (1996-08-22)	1,3,9, 11,13, 14,17
Y	revendications 1-4,7-11,14-18; exemples 1-11	12,17
A	--- GOMES DA SILVA, W: "The Brazil Nut (Bertholletia excelsa H.B.K.- Family: Lecythidaceae). Note II: Lipids: Study of the Chemical Composition." RIVISTA ITALIANA DELLE SOSTANZE GRASSE, vol. 74, no. 7, 1997, pages 311-314, XP000852534 Milano (IT) Résumé tableau V --- -/--	1,3,9, 11,13, 14,17

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

Z document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

13 décembre 1999

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

20.04.00

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

SIERRA GONZALEZ, M

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Don de Internationale No

PCT/FR 99/01260

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 128, no. 4, 26 janvier 1998 (1998-01-26) --- Columbus, Ohio, US; abstract no. 32365, EL-SHAMY, ALI M. ET AL: "Phytochemical study of Clerodendron inerme L. growing in Egypt" XP002124534 abrégé & ZAGAZIG J. PHARM. SCI. (1996), 5(2), 49-53, 1996,	
X	WO 97 28814 A (SEROBIOLOGIQUES SOCIETE ANONYM ; PAULY GILLES (FR); PAULY MARC (FR)) 14 août 1997 (1997-08-14) page 2, ligne 1-10 page 3, ligne 13-22 revendications 1-8.	1,3,9,17
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 116, no. 5, 3 février 1992 (1992-02-03) Columbus, Ohio, US; abstract no. 37930, R. ZAFAR: "Chemical examination of the leaves of Diospyros montana Roxb" XP002124547 abrégé & INDIAN DRUGS, vol. 28, no. 9, 1991, pages 28-29,	1,3,9,17
X	EP 0 826 367 A (LVMH RECH) 4 mars 1998 (1998-03-04)	15,16
Y	page 2, ligne 14, 28-37 revendications 1,5,6,10,11	12,17
A	A.Y LEUNG: "Encyclopedia of Common Natural Ingredients Used in Food, Drugs, and Cosmetics" 1996, WILEY-INTERSCIENCE PUBLICATION, NEW YORK (USA) XP002099892 page 284, colonne 1, alinéa 3 page 28, colonne 2, alinéa 3 page 285, colonne 1, ligne 2 -----	1-3,5-7, 13

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale n°

PCT/FR 99/ 01260

Cadre I Observations - lorsqu'il a été estimé que certaines revendications ne pouvaient pas faire l'objet d'une recherche (suite du point 1 de la première feuille)

Conformément à l'article 17.2)a), certaines revendications n'ont pas fait l'objet d'une recherche pour les motifs suivants:

1. ☐ Les revendications n°
se rapportent à un objet à l'égard duquel l'administration n'est pas tenue de procéder à la recherche, à savoir:
2. ☒ Les revendications n°
se rapportent à des parties de la demande internationale qui ne remplissent pas suffisamment les conditions prescrites pour qu'une recherche significative puisse être effectuée, en particulier:
voir feuille supplémentaire SUITE DES RENSEIGNEMENTS PCT/ISA/210
3. ☐ Les revendications n°
sont des revendications dépendantes et ne sont pas rédigées conformément aux dispositions de la deuxième et de la troisième phrases de la règle 6.4.a).

Cadre II Observations - lorsqu'il y a absence d'unité de l'invention (suite du point 2 de la première feuille)

L'administration chargée de la recherche internationale a trouvé plusieurs inventions dans la demande internationale, à savoir:

voir feuille supplémentaire

1. ☐ Comme toutes les taxes additionnelles ont été payées dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale porte sur toutes les revendications pouvant faire l'objet d'une recherche.
2. ☐ Comme toutes les recherches portant sur les revendications qui s'y prêtaient ont pu être effectuées sans effort particulier justifiant une taxe additionnelle, l'administration n'a sollicité le paiement d'aucune taxe de cette nature.
3. ☐ Comme une partie seulement des taxes additionnelles demandées a été payée dans les délais par le déposant, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur les revendications pour lesquelles les taxes ont été payées, à savoir les revendications n°
4. ☒ Aucune taxe additionnelle demandée n'a été payée dans les délais par le déposant. En conséquence, le présent rapport de recherche internationale ne porte que sur l'invention mentionnée en premier lieu dans les revendications; elle est

1 3 9-17 (toutes partiellement)

Remarque quant à la réserve

- ☐ Les taxes additionnelles étaient accompagnées d'une réserve de la part du déposant.
- ☐ Le paiement des taxes additionnelles n'était assorti d'aucune réserve.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No. PCT/FR 99/01260

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

1. revendications: 1 3 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique, ou d'un extrait végétal riche en de tels composés, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique avec un ecdystéroïde; cette utilisation et cette composition ne comprenant pas les caractéristiques des inventions 2-21.

2. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 7 (totalement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) d'une plante de type Medicago, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) d'une plante de type Medicago avec un ecdystéroïde.

3. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 8 (totalement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de soja, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de soja avec un ecdystéroïde.

4. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de Phaseolus vulgaris, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de Phaseolus vulgaris avec un ecdystéroïde.

5. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No. PCT/FR 99/01260

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Phaseolus aureus*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Phaseolus aureus* avec un ecdystéroïde.

6. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Phaseolus lunatus*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Phaseolus lunatus* avec un ecdystéroïde.

7. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Vicia faba*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Vicia faba* avec un ecdystéroïde.

8. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Lens culinaris*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Lens culinaris* avec un ecdystéroïde.

9. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No. PCT/FR 99/01260

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

nature triterpénique extrait(e) de *Cicer arietum*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Cicer arietum* avec un ecdystéroïde.

10. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Vigna angularis*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Vigna angularis* avec un ecdystéroïde.

11. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Vigna mungo*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Vigna mungo* avec un ecdystéroïde.

12. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Oxytropis ochrocephala*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Oxytropis ochrocephala* avec un ecdystéroïde.

13. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Oxytropis glabra*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No. PCT/FR 99/01260

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Oxytropis glabra* avec un ecdystéroïde.

14. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Pisum sativum*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Pisum sativum* avec un ecdystéroïde.

15. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Sophora faveszens*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Sophora faveszens* avec un ecdystéroïde.

16. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Asparalus membranaceus*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Asparalus membranaceus* avec un ecdystéroïde.

17. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Crotalaria albida*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Crotalaria albida* avec un ecdystéroïde.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No. PCT/FR 99/01260

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDICUES SUR PCT/ISA/ 210

18. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-
17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Arachis hypogaea*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Arachis hypogaea* avec un ecdystéroïde.

19. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-
17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Galega officinalis*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Galega officinalis* avec un ecdystéroïde.

20. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-
17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Wistaria brachybotrys*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Wistaria brachybotrys* avec un ecdystéroïde.

21. revendications: 1-6 (toutes partiellement) 9-
17 (toutes partiellement)

Utilisation d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Trifolium repens*, comme agent cosmétique destiné à augmenter la quantité de collagène IV dans la jonction dermo-épidermique. Composition cosmétique ou pharmaceutique contenant l'association d'au moins une saponine ou un sapogénol de nature triterpénique extrait(e) de *Trifolium repens* avec un ecdystéroïde.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No. PCT/FR 99/01260

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUEES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 1,3 9-17

Les revendications 1,3 et 9-17 présentes ont trait à une très grande variété de composés: des saponines ou sapogénols de nature triterpénique. Un fondement au sens de L'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'Article 5 PCT ne peut cependant être trouvé que pour un nombre très restreint de ces composés revendiqués. Dans le cas présent, les revendications manquent à un tel point de fondement et l'exposé de l'invention dans la description est si limité qu'une recherche significative couvrant tout le spectre revendiqué est impossible. Par conséquent, la recherche pour la première invention a été limitée à l'idée générale sous-jacente à la présente demande

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

De l'Organisation internationale No

PCT/FR 99/01260

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
WO 9625143 A	22-08-1996	FR 2730635 A	23-08-1996
		AU 4835496 A	04-09-1996
		EP 0809484 A	03-12-1997
		JP 11500432 T	12-01-1999
WO 9728814 A	14-08-1997	FR 2744366 A	08-08-1997
		AU 1728597 A	28-08-1997
EP 0826367 A	04-03-1998	FR 2752527 A	27-02-1998
		JP 10203992 A	04-08-1998
		US 6004568 A	21-12-1999

